羟基蛋氨酸锌对产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质和免疫相关基因表达的影响[1]

齐　茜　李佶隆　马淑雪　刘　幸　高玉鹏　闵育娜*

（西北农林科技大学动物科技学院，杨凌 712100）

摘　要：本试验旨在研究羟基蛋氨酸锌（MHA-Zn）对产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质和免疫相关基因表达的影响。选取体重和产蛋率相近的 57 周龄海兰灰蛋鸡 960 只，随机分为 4 个组，每组 8 个重复，每个重复 30 只。参照 NRC（1994）蛋鸡饲养标准和海兰公司推荐的饲粮营养水平配制玉米-豆粕型基础饲粮（锌含量 35.08 mg/kg），对照组在基础饲粮中添加 80 mg/kg 硫酸锌（以锌计），试验组分别在基础饲粮中添加 20、40 和 80 mg/kg MHA-Zn（以锌计）。预试期 4 周，正试期 12 周。结果表明：1）各组之间蛋鸡的产蛋率、平均蛋重、平均日采食量、料蛋比、日产蛋重均无显著差异（P＞0.05）。2）各组之间鸡蛋的蛋白高度、哈夫单位和蛋黄颜色均无显著差异（P＞0.05）。40 和 80 mg/kg MHA-Zn 组鸡蛋的蛋壳厚度和蛋壳强度均显著高于对照组和 20 mg/kg MHA-Zn 组（P＜0.05），破蛋率显著低于对照组和 20 mg/kg MHA-Zn 组（P＜0.05）。3）各组之间蛋鸡的脾脏免疫相关基因核因子-κB1（*NF-κB1*）、肿瘤坏死因子-α（*TNF-α*）和白细胞介素-10（*IL*-10）mRNA 的相对表达量均无显著差异（P＞0.05）。80 mg/kg MHA-Zn 组的脾脏白细胞介素-8（*IL*-8）mRNA 的相对表达量显著低于 40 mg/kg MHA-Zn 组（P<0.05），40 mg/kg MHA-Zn 组显著低于 20 mg/kg MHA-Zn 组（P<0.05）。综上所述，饲粮中添加 40 和 80 mg/kg 的 MHA-Zn 可显著提高蛋壳厚度和蛋壳强度，显著降低破蛋率，并显著降低促炎因子 *IL*-8 mRNA 的相对表达量。建议产蛋后期蛋鸡饲粮中 MHA-Zn 适宜添加水平为 40 mg/kg。

关键词：蛋鸡；羟基蛋氨酸锌；生产性能；蛋品质；免疫相关基因

中图分类号：S831

蛋鸡产蛋后期，因长时间保持旺盛的脂质代谢，产蛋性能下降，生理机能逐渐弱化，健康状态不容乐观。锌存在于所有的生物体中，调控机体多种代谢途径，参与机体的生长、发育、繁殖和免疫应答[1]；锌在蛋白质合成[2]、蛋白质沉积和蛋壳膜峡部沉积过程中起到了重要作用[3]；锌参与调节先天性免疫和适应性免疫反应，缺锌导致细胞介导的免疫功能障碍[4]，影响上皮细胞质量；在大鼠饲喂缺锌饲粮 30 d 后血浆瘦素含量、机体代谢率、酶活性显著降低[5]。

收稿日期：2018-05-28

基金项目：现代农业产业技术体系建设专项资金（CARS-40-S20）；陕西省科技统筹创新工程计划项目(2016KTL02-18)

作者简介：齐　茜（1994-），女，陕西周至人，硕士研究生，动物营养与饲料科学专业。E-mail: 1336762544@qq.com

*通信作者：闵育娜，副教授，硕士生导师，E-mail: minyuna2003@163.com

在生产中通常添加的无机锌以二价金属游离状态被吸收，这种添加方式易与植酸盐或木质素螯合降低锌的利用率。羟基蛋氨酸锌（MHA-Zn）是蛋氨酸羟基类似物与锌螯合成的一种有机锌，在动物生产中具有毒性低、化学性质稳定、适口性好及无刺激作用等优点[6]。研究表明，有机锌（例如氨基酸锌）通过氨基酸或小肽的方式被吸收，比无机锌利用率更高[7]，排放少，对环境造成的污染小。因此，用 MHA-Zn 替代无机锌可降低锌的添加水平。锌影响蛋和蛋壳品质，饲粮添加 80 mg/kg 锌可增加蛋壳强度[8]，过量添加则降低平均蛋重[9]；锌调控蛋壳结构，影响蛋壳的沉积和超微晶体结构[10]；低剂量的有机锌能够满足生产需要[11]；无机锌添加水平达到 70 mg/kg 时在生产中效果更好[12]。对于 MHA-Zn 替代无机锌在蛋鸡饲粮中的应用研究较少，且尚未研究不同锌源对免疫调控的分子机制。利用 MHA-Zn 部分或全部替代生产中常用的无机锌，可能对蛋鸡的生产性能、蛋品质和机体免疫功能达到相应效果。基于此，本试验进一步探讨饲粮中 MHA-Zn 的适宜添加水平及其对免疫相关基因表达的影响，旨在揭示其调控蛋鸡免疫的分子机制，为提高产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验锌源分别为硫酸锌（锌含量≥34.5%）和 MHA-Zn（羟基蛋氨酸质量分数为 80%，锌含量为 12.1%，螯合率 90%），由上海诺伟司公司提供。

1.2 试验设计

选取 960 只健康、产蛋性能基本一致的 57 周龄末海兰灰蛋鸡，采用单因子完全随机设计，随机分成 4 个组，每组 8 个重复，每个重复 30 只。参照 NRC（1994）蛋鸡饲养标准，结合海兰公司推荐的饲粮营养水平，设计玉米-豆粕型基础饲粮（锌含量 35.08 mg/kg），基础饲粮组成及营养水平见表 1。预试期蛋鸡饲喂不补充锌的基础饲粮。正试期对照组在基础饲粮中添加 80 mg/kg 硫酸锌（以锌计），试验组分别在基础饲粮中添加 20、40 和 80 mg/kg MHA-Zn（以锌计）。试验期 16 周，其中预试期 4 周（57～60 周龄），正试期 12 周（61～72 周龄）。

表 1　基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis)　　　%

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	58.50

豆粕 Soybean meal	23.00
石粉 Limestone	8.74
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.10
麦麸 Wheat bran	7.50
豆油 Soybean oil	0.50
食盐 NaCl	0.24
蛋氨酸 Met	0.16
苏氨酸 Thr	0.03
赖氨酸 Lys	0.05
预混料 Premix[1)]	0.18
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]	
代谢能 ME/（MJ/kg）	12.29
粗蛋白质 CP	15.47
钙 Ca	3.60
总磷 TP	0.62
有效磷 AP	0.32
赖氨酸 Lys	0.94
蛋氨酸 Met	0.44
苏氨酸 Thr	0.70
锌 Zn/（mg/kg）	35.08

[1)]预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of the diet：VA 10 000 IU，VD_3 1 800 IU，VE 10 IU，VK 10 mg，VB_{12} 5 μg，硫胺素 thiamine l mg，核黄素 riboflavin 4.5 mg，泛酸钙 calcium pantothenate 50 mg，烟酸 niacin 24.5 mg，吡哆醇 pyridoxine 5 mg，生物素 biotin 1 mg，叶酸 folic acid 1 mg，胆碱 choline 500 mg，Mn 60 mg，I 0.4 mg，Fe 80 mg，Cu 8 mg，Se 0.3 mg.

[2)]粗蛋白质、钙、总磷和锌为实测值，其余为计算值。CP, Ca, TP and Zn were measured values, while the others were calculated values.

1.3　饲养管理

饲养试验在陕西杨凌西北农林科技大学试验鸡场进行。3 层阶梯式笼养，每笼 2 只鸡，有窗鸡舍。同一组的鸡均匀分布于鸡舍不同空间，自由采食、饮水，机械清粪，每天光照 16 h。鸡舍温度 18～29 ℃，相对湿度 50%～70%。每天饲喂 3 次（08:00、11:00、16:00），17:00 收集鸡蛋。每天观察鸡群健康状况，记录死淘鸡数。常规免疫、消毒和饲养管理。

1.4　指标测定

1.4.1　生产性能

正试期间，以重复为单位记录每天产蛋数、蛋重、喂料量、鸡只存栏数、破蛋数，每周称 1 次剩余料量，最后计算试验前期（61～64 周龄）、试验中期（65～68 周龄）和试验后期（69～72 周龄）的产蛋率、日产蛋重、平均蛋重、平均日采食量和料蛋比。

1.4.2　蛋品质

正试期第 4、8 和 12 周末，连续 2 d，每重复随机选取 3 枚正常鸡蛋，测定蛋品质，蛋品质指标包括：蛋重、蛋白高度、蛋壳强度、蛋壳厚度、蛋形指数、蛋黄颜色、哈夫单位、破蛋率。蛋壳厚度是在鸡蛋上取上、中、下 3 点，用蛋壳厚度测定仪（ETG-1601A，Robotmation 公司，日本）测定取平均值，蛋壳强度由蛋壳强度测定仪（EFG-0503，Robotmation 公司，日本）测定，蛋白高度、蛋黄颜色和哈夫单位采用蛋品质自动分析仪（EMT-5200，Robotmation 公司，日本）测定。

1.4.3　脾脏中炎症免疫细胞因子相关基因表达

试验期末（72 周龄末）从每重复随机选取 1 只健康、体重接近平均体重的蛋鸡，采血后屠宰，分别取同部位的脾脏组织 2 g 左右，迅速剪成 30～50 mg 大小的组织块，放入冻存管置于液氮中速冻，-80 ℃保存待测。

采用 Trizol 试剂盒（TaKaRa）提取样品中的总 RNA，经核酸浓度分析仪测定吸光度在 260 和 280 nm 处的比值在 1.80～2.10，自动记录各浓度。琼脂糖凝胶电泳法检测其 RNA 质量。取 RNA 样品 1 μg，参照 TaKaRa 反转录试剂盒说明书，进行逆转录，合成 cDNA。采用 Primer 6.0 软件设计引物，PCR 引物序列见表 2。以 cDNA 为模板，采用荧光定量 PCR 技术检测脾脏中炎症免疫相关基因[核因子-κB1（*NF-κB*1）、细胞白介素-10（*IL*-10）、细胞白介素-8（*IL*-8）、肿瘤坏死因子-α（*TNF-α*）]mRNA 的相对表达量，应用 Appiled Biosystems 7300 Real Time PCR System 操作。20 μL 反应体系包括：10 μL 2×SYBR Green PCR Master Mix，2 μL cDNA，0.8 μL 上游引物，0.8 μL 下游引物，0.4 μL ROX Reference Dye，6 μL ddH_20。反应条件为：95 ℃预变性 30 s；

95 ℃变性 0.05 s，60 ℃退火 34 s，共 40 个循环。根据目的基因和内参基因的阈值循环（CT），采用 $2^{-\triangle\triangle CT}$ 法计算样品中各目的基因 mRNA 的相对表达量。

表 2　PCR 引物序列

Table 2　Primer sequences for PCR

基因名称 Gene names	序列 Primer sequences (5′-3′)	产物大小 Product size/bp
核因子-κB1 *NF-κB*1	F：ACTGATTGCTGCTGGAGTTGATGTC R：GCTGCTATGTGAAGAGGCGTTGT	174
细胞白介素-10 *IL*-10	F：CCAGCACCAGTCATCAGCAGAG R：ATCCCGTTCTCATCCATCTTCTCG	160
细胞白介素-8 *IL*-8	F：GCATTCCATCTTCCACCTTCCACAT R：TCCCACAGCACTGACCATTATGAAA	123
肿瘤坏死因子-α *TNF-α*	F：AGGACAGCCTATGCCAACAAGT R：CCACCACACGACAGCCAAGT	174
β-肌动蛋白 β-actin	F：ATTGTCCACCGCAAATGCTTC R：AAATAAAGCCATGCCAATCTCGTC	113

1.5　数据处理

试验数据采用 Excel 2013 进行初步处理，用 SPSS 21.0 进行单因素方差分析，组间均值用 Duncan 氏法进行多重比较，数据均用“平均值±标准差”表示，以 $P<0.05$ 作为差异显著性判断标准。

2　结　果

2.1　MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

由表 3 可知，各组之间蛋鸡的平均日采食量、产蛋率、料蛋比、日产蛋重和平均蛋重在试验前期、试验中期和试验后期均差异不显著（$P>0.05$）。

表 3　MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

Table 3　Effects of MHA-Zn on performance of laying hens during later period of laying

项目 Items	周龄 Week of age	组别 Groups 对照 Control	 20 mg/kg MHA-Zn	 40 mg/kg MHA-Zn	 80 mg/kg MHA-Zn	*P* 值 *P*-value
平均日采食量	61～64	120.86±0.71	121.16±0.50	121.14±0.60	121.12±0.76	0.763
ADFI/g	65～68	121.36±0.78	121.21±0.95	120.84±0.79	121.20±0.38	0.561
	69～72	120.94±2.09	120.35±2.03	120.10±1.63	120.76±2.57	0.851
产蛋率	61～64	85.63±1.42	85.63±0.93	85.78±1.11	85.69±1.92	0.996
Laying rate/%	65～68	83.76±0.69	84.11±1.08	84.31±0.86	84.04±1.20	0.733
	69～72	81.32±1.65	81.73±1.98	82.07±2.36	81.75±2.41	0.918
料蛋比	61～64	2.17±0.03	2.18±0.03	2.17±0.03	2.17±0.05	0.979
Feed/egg	65～68	2.20±0.04	2.20±0.05	2.18±0.05	2.19±0.04	0.831
	69～72	2.24±0.04	2.22±0.04	2.21±0.05	2.23±0.05	0.519
平均蛋重	61～64	65.09±0.50	65.05±0.29	65.18±0.39	65.10±0.68	0.963
Average egg	65～68	65.85±0.73	65.66±0.95	65.80±0.66	65.89±0.74	0.941
weight/g	69～72	66.38±0.51	66.37±0.47	66.44±0.65	66.46±0.54	0.985
日产蛋重	61～64	55.73±0.99	55.71±0.82	55.91±0.80	55.77±1.13	0.975
Daily eggs mass/g	65～68	55.16±0.95	55.23±1.29	55.48±1.03	55.37±1.03	0.937
	69～72	53.98±1.04	54.25±1.54	54.53±1.78	54.33±1.74	0.914

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05），相同或无字母表示差异不显著（*P*>0.05）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (*P*<0.05), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference (*P*>0.05). The same as below.

2.2　MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

由表 4 可知，各组之间鸡蛋的蛋黄颜色、哈夫单位和蛋白高度均差异不显著（*P*＞0.05）。40 和 80 mg/kg MHA-Zn 组试验前期、试验中期和试验后期鸡蛋的蛋壳厚度和蛋壳强度均显著高于对照组和 20 mg/kg MHA-Zn 组（*P*＜0.05）。40、80 mg/kg MHA-Zn 组试验前期、试验中期和试验后期鸡蛋的破蛋率均显著低于对照组和 20 mg/kg MHA-Zn 组（*P*＜0.05）。

表 4　MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

Table 4　Effects of MHA-Zn on egg quality of laying hens during later period of laying

项目 Items	周龄 Week of age	组别 Groups				*P* 值 *P*-value
		对照 Control	20 mg/kg MHA-Zn	40 mg/kg MHA-Zn	80 mg/kg MHA-Zn	
蛋壳厚度 Eggshell thickness/mm	61～64	0.369±0.01^{c}	0.367±0.01^{c}	0.376±0.01^{ab}	0.379±0.01^{a}	0.029
	65～68	0.345±0.01^{b}	0.343±0.01^{b}	0.366±0.01^{a}	0.369±0.02^{a}	<0.001
	69～72	0.316±0.01^{b}	0.313±0.01^{b}	0.359±0.01^{a}	0.358±0.01^{a}	<0.001
蛋壳强度 Eggshell Strength/N	61～64	3.81±0.09^{b}	3.77±0.13^{b}	4.00±0.25^{a}	4.01±0.13^{a}	0.005
	65～68	3.46±0.16^{b}	3.47±0.12^{b}	3.81±0.12^{a}	3.82±0.17^{a}	<0.001
	69～72	3.30±0.12^{b}	3.27±0.19^{b}	3.62±0.12^{a}	3.60±0.12^{a}	<0.001
蛋白高度 Albumen height/mm	61～64	9.43±0.08	9.48±0.17	9.47±0.28	9.40±0.14	0.802
	65～68	9.17±0.31	9.11±0.22	9.22±0.31	9.16±0.29	0.887
	69～72	8.88±0.11	8.89±0.16	8.98±0.20	8.95±0.28	0.666
哈夫单位 Haugh unit	61～64	96.42±0.59	96.42±0.73	96.54±1.50	96.75±2.33	0.966
	65～68	95.45±1.18	95.22±0.83	95.68±1.57	95.68±1.11	0.847
	69～72	94.10±2.05	94.06±1.92	94.24±0.77	94.39±1.81	0.980
蛋黄颜色 Yolk color	61～64	7.67±0.18	7.64±0.19	7.61±0.09	7.60±0.24	0.857
	65～68	7.09±0.26	7.11±0.19	7.17±0.33	7.03±0.24	0.741
	69～72	6.78±0.12	6.80±0.20	6.92±0.10	6.77±0.19	0.253
破蛋率 Broken rate/%	61～64	1.19±0.19^{a}	1.20±0.13^{a}	0.85±0.25^{b}	0.79±0.20^{b}	<0.001
	65～68	1.82±0.22^{a}	1.85±0.21^{a}	1.35±0.41^{b}	1.32±0.19^{b}	<0.001
	69～72	1.48±0.12^{a}	1.51±0.14^{a}	1.09±0.22^{b}	1.04±0.12^{b}	<0.001

2.3　MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡脾脏免疫相关基因 mRNA 相对表达量的影响

由表 5 可知，80 mg/kg MHA-Zn 组脾脏 *IL*-8 mRNA 的相对表达量显著低于 40 mg/kg MHA-Zn 组（*P*<0.05），40 mg/kg MHA-Zn 组显著低于 20 mg/kg MHA-Zn 组（*P*<0.05）。各组之间脾脏 *TNF-a*、*IL*-10 和 *NF-κB*1 mRNA 的相对表达量均差异不显著（*P*>0.05）。

表 5　MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡脾脏免疫相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Table 5　Effects of MHA-Zn on mRNA relative expression level of immune-related gene in spleen of laying hens during later period of laying

项目 Items	组别 Groups				P 值 P-value
	对照 Control	20 mg/kg MHA-Zn	40 mg/kg MHA-Zn	80 mg/kg MHA-Zn	
肿瘤坏死因子α *TNF-α*	1.00±0.33	1.04±0.59	0.74±0.42	1.23±0.65	0.673
细胞白介素-8 *IL*-8	1.00±0.34^{bc}	2.68±0.39^{a}	1.44±0.45^{b}	0.58±0.05^{c}	0.002
核因子-κB1 *NF-κB*1	1.00±0.23	1.23±0.22	0.85±0.12	0.91±0.34	0.582
细胞白介素-10 *IL*-10	1.00±0.21	0.73±0.37	0.97±0.33	1.17±0.12	0.328

3 讨　论

3.1　MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡生产性能的影响

锌是机体重要的微量元素，参与机体多种酶的合成。研究表明，饲粮中添加不同水平的锌能够提高肉鸡的生产性能和肉品质[13]，这可能是由于锌对于维持金属蛋白的结构有着至关重要的作用，缺锌会影响肉鸡的蛋白质代谢[14]。研究表明，有机锌的利用率高于无机锌，在饲粮中添加蛋氨酸锌能够显著提高蛋鸡的生产性能、蛋品质和免疫机能[15]。薛颖等[16]研究表明，以有机形式添加复合微量元素时可以显著提高产蛋率，降低料蛋比。基础饲粮中添加 70、140 mg/kg 蛋氨酸锌能够显著提高日产蛋重和产蛋率，降低料蛋比[17]。本试验结果表明，饲粮添加不同水平的 MHA-Zn 对蛋鸡产蛋后期平均日采食量、料蛋比、平均蛋重、产蛋率和日产蛋重均无显著影响。这与前人的研究结果不一致，可能是由于本试验中基础饲粮中锌含量为 35.08 mg/kg，已经达到蛋鸡生长与生产的需要量，在基础饲粮上再添加锌，部分生产性能并不会随着饲粮锌添加水平的增加而提高。同时，饲粮中铜、锰、铁含量为固定值，添加高水平的锌会因元素间拮抗的作用而影响吸收利用。

3.2　MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡蛋品质的影响

蛋壳破损是鸡蛋被淘汰的主要原因之一。微量元素的催化特性作为关键酶参与蛋壳膜和蛋壳的形成过程。锌是碳酸酐酶的重要组分，碳酸酐酶在蛋壳形成过程中提供重要的碳酸盐离子（HCO_3^-），碳酸盐沉积会增加蛋壳重量。缺锌会导致 HCO_3^-减少，大大降低蛋壳厚度，影响蛋壳重量[10]。有研究表明，在不同的饲粮锌水平下，蛋壳厚度没有显著差异时蛋壳强度存在显著差异[18]，这说明蛋壳的强度可能与蛋壳的结构关系

更密切。锌能够影响蛋白质的合成，在蛋壳的形成的过程中可能影响蛋壳膜的结构[3]。微量元素对蛋壳沉积过程中超微晶体的排布也有显著影响，饲粮添加高水平锌能够提高蛋壳强度和蛋壳厚度，降低破蛋率[19]。也有研究结果表明，有机微量元素的吸收率高于无机微量元素，有机锌、锰添加组相比无机锌、锰对照组蛋壳厚度和强度显著增加，破蛋率显著降低[18]。本试验结果与前人研究结果一致，饲粮 MHA-Zn 添加水平为 40 和 80 mg/kg 时与饲粮添加 80 mg/kg 的硫酸锌相比能够显著提高蛋壳重量和蛋壳强度，显著降低破蛋率。这些指标并没有随着有机锌的添加水平的增加而显著变化，而添加 40 和 80 mg/kg MHA-Zn 组之间没有显著差异，这也与上述研究结果一致，当锌的添加水平达到一定水平后，继续添加锌对蛋壳厚度、强度等指标不会有持续增加效果。饲粮添加 40 mg/kg 的 MHA-Zn 就可以达到生产中饲粮添加 80 mg/kg 硫酸锌的效果。

3.3 MHA-Zn 对产蛋后期蛋鸡脾脏免疫相关基因表达的影响

锌缺乏会影响机体免疫功能[5]。越来越多的文献表明，锌作为炎症免疫信号通路核因子-κB（NF-κB）信号的负调控因子，影响炎症细胞因子的表达[20]。在机体锌缺乏时会使促炎性细胞因子如白细胞介素-1β（*IL*-1*β*）、白细胞介素-6（*IL*-6）和 *TNF*-*α*的表达上调[21]。NF-κB1 是一种介导促炎反应的高度保守的核转录因子，研究发现 NF-κB1 与细胞凋亡的关系也相当密切，其参与多种凋亡相关基因的转录调控，具有抑制和促进细胞凋亡的双向作用。IL-8 是免疫趋化因子，主要调节体内造血细胞、B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、内皮细胞、神经细胞等多种细胞的增殖和分化，可导致机体局部炎症反应[22]。IL-10 作用于多种免疫细胞，抑制白细胞介素-1（IL-1）、IL-6、白细胞介素-12（IL-12）和 TNF-α等促炎细胞因子[23]。在肉鸡试验中，通过对种鸡和子代肉鸡提供低高剂量有机锌，可显著降低促炎因子 *IL*-1*β*、*TNF*-*α*和 *IL*-8 mRNA 的相对表达量，而低剂量有机锌组结果则相反；同时种鸡词喂高剂量无机锌组的子代肉鸡空肠的 *IL*-6、*IL*-1*β*和 *IL*-8 mRNA 的相对表达量显著低于种鸡词喂正常剂量有机锌组[24]。在人体内补充锌能够通过结合锌指蛋白 A20，抑制 NF-κB 活化来降低 *IL*-1*β*和 *TNF*-*α* mRNA 的相对表达量，从而下调炎症细胞因子[16]。饲粮添加有机锌能够提高动物的抗氧化能力，在之前的研究中发现，饲粮添加 MHA-Zn 能够显著提高蛋鸡血清和肝脏中的总抗氧化能力[11]。

本试验中，与 20 mg/kgMHA-Zn 组相比，80 mg/kg MHA-Zn 组促炎细胞因子 *IL*-8 mRNA 的相对表达量显著降低，这与李昌武[23]的研究结果一致，李昌武[23]研究表明，在添加低剂量锌的饲粮条件下，促炎因子 *IL*-1*β*、*TNF*-*α*和 *IL*-8 mRNA 的相对表达量显著上调。本试验中，饲粮添加不同水平的 MHA-Zn 对脾脏 *NF*-*κB*1、*TNF*-*α* 和 *IL*-10 mRNA 的相对表达量均无显著影响。这可能是由于试验动物年龄与生理状态的差异，蛋鸡产蛋后期各项生理机能都处于较低水平，也可能由于微量元素之间的互作效应，短期锌营养的变化可能影响其他微量元素的吸收。

4 结　论

饲粮添加 40 和 80 mg/kg MHA-Zn 可显著提高蛋壳厚度和蛋壳强度，显著降低破蛋率，显著降低脾脏促炎因子 *IL*-8 mRNA 的相对表达量。建议产蛋后期蛋鸡饲粮中 MHA-Zn 的适宜添加水平为 40 mg/kg。

参考文献：

[1] SALIM H M,JO C,LEE B D.Zinc in broiler feeding and nutrition[J].Avian Biology Research,2008,1(1):5–18.

[2] SPEARS J W,NOTES A.Zinc methionine for ruminants:relative bioavailability of zinc in lambs and effects of growth and performance of growing heifers[J].Journal of Animal Science,1989,67(3):835–843.

[3] ABDALLAH A G,HARMS R H,WILISON H R,et al.Effect of removing trace minerals from the diet of hens laying eggs with heavy or light shell weight[J].Poultry Science,1994,73(2):295–301.

[4] GAMMOH N Z,RINK L.Zinc in infection and inflammation[J].Nutrients,2017,9(6):E624.

[5] GAETKE L M,FREDERICH R C,OZ H S,et al.Decreased food intake rather than zinc deficiency is associated with changes in plasma leptin,metabolic rate,and activity levels in zinc deficient rats[J].Journal of Nutritional Biochemistry,2002,13(4):237–244.

[6] 吴文平,何进,刘伶俐.羟基蛋氨酸螯合物在动物生产中的应用[J].饲料博览,2006(9):43–45.

[7] TABATABAIE M M,ALIARABI H,SAKI A A,et al.Effect of different sources and levels of zinc on egg quality and laying hen performance[J].Pakistan Journal of Biological Sciences,2007,10(19):3476–3478.

[8] MARTIN K M.The effects of zinc supplementation from two sources on egg quality and bone health in laying hens[D].Ph.D.Thesis.Nebraska:Lincoln University,2016.

[9] ZAMANI A,RAHMANI H,POURREZA J.Eggshell quality is improved by excessive dietary zinc and manganese [C]//Proceedings of the 15th European Symposium on poultry nutrition.Balatonfüred:Hungary,2005:542-544.

[10] MABE I,RAPP C,BAIN M M,et al.Supplementation of a corn-soybean meal diet with manganese,copper,and zinc from organic or inorganic sources improves eggshell quality in aged laying hens[J].Poultry Science,2003,82(12):1903–1913.

[11] 刘凤霞,刘幸,齐茜,等.日粮有机锌水平对产蛋后期蛋鸡生产性能,免疫功能和抗氧化指标的影响[J].中国家禽,2017,39(24):28–34.

[12] AO T,PIERCE J L,POEER R,et al.Effects of feeding different forms of zinc and copper on the performance and tissue mineral content of chicks[J].Poultry Science,2009,88(10):2171–2175.

[13] LIU Z H,LU L,LI S F,et al.Effects of supplemental zinc source and level on growth performance,carcass traits,and meat quality of broilers[J].Poultry Science,2011,90(8):1782–1790.

[14] SWINKELS J W G M,KORNEGAY E T,VERSTEGEN M W A.Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates[J].Nutrition Research Reviews,1994,7(1):129–149.

[15] 许甲平,鲍宏云,冯一凡.蛋氨酸锌对产蛋鸡产蛋性能和非特异性免疫功能的影响[J].饲料工业,2012,33(20):58–61.

[16] 薛颖,董晓芳,佟建明,等.不同水平无机及有机复合微量元素对蛋鸡生产性能及蛋品质的影响[J].动物营养学报,2015,27(4):1086–1100.

[17] 陈娜娜,何俊娜,郭阳,等.蛋鸡对饲粮中蛋氨酸锌的耐受性研究[J].动物营养学报,2017,29(2):511–518.

[18] 赵斌亮.多种维生素和微量元素对蛋鸡生产性能及蛋壳质量的影响[D].硕士学位论文.杨陵:西北农林科技大学,2007.

[19] ZHANG Y N,ZHANG H J,WANG J,et al.Effect of dietary supplementation of organic or inorganic zinc on carbonic anhydrase activity in eggshell formation and quality of aged laying hens[J].Poultry Science,2017,96(7):2176–2183.

[20] PRASED A S,BAO B,BECK F W J,et al.Antioxidant effect of zinc in humans[J].Free Radical Biology and Medicine,2004,37(8):1182–1190.

[21] HAASE H,RINK L.Zinc signals and immune function[J].Biofactors,2014,40(1):27–40.

[22] 李瑶,吕德官,陈临溪.IL-8 及其受体药物与疾病的研究进展[J].中国药理学通报,2014,30(3):310–314.

[23] 周琳,周光炎,路丽明.IL-10 的双向免疫调节作用[J].细胞与分子免疫学杂志,2012,28(10):1100–1102,1106.

[24] 李昌武.肉种鸡锌营养对子代肉鸡免疫机能的影响及其分子机制[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,2015:45–52.

Effects of Methionine Hydroxy Analog Chelate Zinc on Performance, Eggshell Quality and Immune-Related Gene Expression of Laying Hens during Later Period of Laying

*Corresponding author, associate professor, E-mail: minyuna2003@163.com

（责任编辑　武海龙）

QI Xi LI Jilong MA Shuxue LIU Xing GAO Yupeng MIN Yuna*

(*College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling* 712100, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of methionine hydroxy analog chelate zinc (MHA-Zn) on performance, eggshell quality and immune-related gene expression of laying hens during later period of laying. A total of 960 Hy-Line grey laying hens (57-week-old) with similar body weight and laying rate were randomly assigned into 4 groups with 8 replicates per group and 30 hens per replicate. The corn-soybean meal basal diet (zinc content was 35.08 mg/kg) were formulated according to NRC（1994） standard for laying hens and the recommended nutrient levels of Hy-Line company, hens in the control group were fed the basal diet supplemented with 80 mg/kg zinc sulfate (as zinc), and hens in the experimental groups were fed the basal diet supplemented with 20, 40 and 80 mg/kg MHA-Zn (as zinc), respectively. The pre-experimental period lasted for 4 weeks, and the experimental period lasted for 12 weeks. The results showed as follows: 1) there were no significant differences on laying rate, average egg weight, average daily feed intake, feed to egg ratio and daily egg mass of laying hens among all groups (P>0.05). 2) There were no significant differences on albumen height, Haugh units and yolk color of eggs among all groups (P>0.05). The eggshell strength and eggshell thickness of eggs in 40 and 80 mg/kg MHA-Zn groups were significantly higher than those in control group and 20 mg/kg MHA-Zn group (P<0.05), and the broken egg rate was significantly lower than that in control group and 20 mg/kg MHA-Zn group (P<0.05). 3) There were no significant differences on mRNA relative expression levels of immune-related genes such as nuclear factor-κB1 （*NF-κB*1）, tumor necrosis factor-α （*TNF-α*） and interleukin-10 （*IL*-10） in spleen among all groups (P>0.05). The mRNA relative expression level of interleukin-8（*IL*-8） in spleen in 80 mg/kg MHA-Zn group was significantly lower than that in 40 mg/kg MHA-Zn group (P<0.05), and the mRNA relative expression level of *IL*-8 in spleen in 40 mg/kg MHA-Zn group was significantly lower than that in 20 mg/kg MHA-Zn group (P<0.05). In conclusion, dietary supplemented with 40 and 80 mg/kg MHA-Zn can significantly increase the eggshell thickness and eggshell strength, significantly decrease the broken egg rate, and significantly decrease the mRNA relative expression level of proinflammatory factor *IL*-8. The optimal dietary MHA-Zn supplemental level of laying hens during later period of laying is 40 mg/kg.

Key words: laying hens; MHA-Zn; performance; eggshell quality; immune-related gene